

狂犬病毒 ELISA 抗体检测试剂盒使用说明书

兽用

【诊断制品名称】

通用名 狂犬病毒 ELISA 抗体检测试剂盒

英文名 Diagnostic Kit for Antibody to Rabies Virus

【主要成分及含量】

名称	96 头份
预包被狂犬病毒抗原的微孔板	1×96 孔
酶标记物	1×6.5 ml
狂犬病毒 IgG 阳性对照	1×1 ml
狂犬病毒 IgG 临界对照	1×1.8 ml
狂犬病毒 IgG 阴性对照	1×1ml
显色液 A	1×6.5ml
显色液 B	1×6.5 ml
终止液	1×6.5 ml
浓缩洗涤液（10 倍）	1×50 ml
样品稀释液	1×50 ml
封板膜	4
密封袋	1
说明书	1
记录纸	1

【作用与用途】

本品系由狂犬病毒抗原包被的微孔板和辣根过氧化物酶标记的葡萄球菌 A 蛋白及其它试剂配套组成，可用于犬、猫等哺乳动物血清中的抗狂犬病毒 IgG 抗体检测。

【用法与判定】

1 用法

- 1.1 试剂盒放置室温平衡 20~30 分钟。取出浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水作 10 倍稀释备用。
- 1.2 稀释样品：将已分离好的血清用样品稀释液做 1:100 稀释（即取 10 μ l 血清或血浆加入到 1ml 样品稀释液中），并充分混匀。
- 1.3 加样：取所需量的预包被微孔板条固定于板架上，加入稀释好的样品，100 μ l/孔，然后将阳性、阴性对照各加 1 孔，临界对照加 3 孔，100 μ l/孔，另留一孔不加样品作空白对照孔，在记录纸上记录各样品和对照品的次序或位置。剩余的板条放入密封袋中保存。
- 1.4 孵育：加样完成后，置 37 $^{\circ}$ C 恒温箱或水浴箱（用封板膜覆盖板条，以避免水珠滴入微孔）中孵育 30 分钟。
- 1.5 洗板：甩净孔中液体，拍干，用稀释好的洗涤液加满每孔，停留 1 分钟后甩净、拍干，反复洗板 3 次。
- 1.6 加酶：除空白对照外，其余各孔垂直滴加酶标记物 50 μ l（1 滴），置 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
- 1.7 显色：按 1.5 洗板 3 次，拍干后每孔（含空白孔）垂直滴加显色液 A、B 各 50 μ l（1 滴），置 37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。
- 1.8 终止：每孔（含空白孔）立即加入终止液 50 μ l（1 滴），混匀后用酶标仪 450nm 波长测定 A 值。

2 判定

2.1 单波长检测：以空白孔调零，用酶标仪读取 450nm 处的 A 值。

2.2 双波长检测：用酶标仪读取 450nm 和 630nm 处的 A 值，以 $A_{450nm} - A_{630nm}$ 计算 A 值。

2.3 阴性对照 A 值 ≤ 0.15 ， $0.20 \leq$ 临界对照 A 值平均值 ≤ 0.80 ，临界对照 A 值平均值 / 阴性对照 A 值平均值 ≥ 2.0 ，阳性对照 A 值 $>$ 临界对照 A 值平均值，证明实验成立，否则试验结果无效，需重新试验。

2.4 如样品孔 A 值 \geq 临界对照 A 值的平均值判为阳性；反之为阴性。

【检验方法的局限性】

本试剂盒包被抗原采用的是狂犬病毒全病毒抗原，检测的是抗狂犬病毒 IgG 总抗体，并非仅检测中和抗体。

【注意事项】

1 使用犬或猫血清样品进行检测，应尽量避免使用染菌、溶血和高血脂的样品；室温保存样品不要超过 8 小时，若实验在 8 小时以后进行，需将样品保存在 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ ，如保存超过 1 周则应保存在 -20°C 并避免反复冻融。

2 为保证检测效果，不同厂家的试剂盒和不同批号试剂盒内的酶标记物、临界对照、阳性对照、阴性对照不能混用。

3 试剂盒各组份从冷藏环境中取出时，应在室温 ($20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$) 平衡至无潮气方可使用。拆封后未用完的包被板应放入密封袋内保存。

4 在储存及温育过程中，应避免强光直接照射。所有试剂瓶盖须盖紧以防止蒸发和污染。

5 为避免试剂或样品的微生物污染及交叉污染，应使用一次性吸头，吸头不要重复使用。

6 在取用对照品和酶标记物之前应轻轻摇动使其充分混匀，加样前，使用微孔振荡器充分混匀稀释过的样品。

7 严格遵守规定的温育时间和温度。如果第一个孔与最后一个孔加样之间的时间间隔太长，将会导致不同的“预温育”时间，从而明显地影响到测量值的准确性及重复性。

8 洗涤结束时，应将微孔板倒扣于纸巾上并轻轻敲打，以确保所有孔内均无洗涤缓冲液，避免产生泡沫。如果使用自动洗板机，应注意正确操作。

9 任何样品都应视为具有传染性，注意安全操作，所有样品和废弃液均应按环保部门或其他相关规定的要求处置。

【规格】

96 头份/盒、192 头份/盒

【贮藏与有效期】

$2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期为 12 个月。